

Dra. Shelly Taurhesia, PhD. Apt.

#### **DEFINISI:**

- Antioksidan : molekul yang mampu memperlambat atau mencegah proses oksidasi molekul lain.
- Oksidasi adalah reaksi kimia yang dapat menghasilkan radikal bebas, sehingga memicu reaksi berantai dan hal ini dapat merusak sel.

#### **APLIKASI INDUSTRI**

Antioksidan banyak digunakan, misal sebagai <u>pengawet</u> makanan dan Kosmetik. Kriteria agar antioksidan dapat digunakan secara luas :

- a) penambahan antioksidan harus tidak merubah bau/rasa produk
- b) harus netral dan tidak bereaksi;
- c) harus mudah dan pasti larut dalam substrat;
- d) harus aman secara farmakologi dan tidak beracun bagi jaringan hewan
- e) Mengingat kulit lebih peka maka antioksidan harus tidak berbahaya bila diaplikasikan secara topical, bebas dari sifat iritasi primer dan sensitizing

#### **SUMBER:**

- 1. Antioksidan dari alam, umumnya tokoferol
- 2. Antioksidan sintetis, seperti 2,6-ditert-butyl-p-hydroxy toluene (BHT), tert-butyl-4-hydroxy anisole (BHA), propyl, octyl and dodecylgallate, tert-butylhydroquinone (TBHQ) and nordihydroguaiaretic acid (NDGA).

Tabel 1. Pengelompokkan antioksidan serta contoh

^ l l l +i !	C-t	
Alphabetical	Categories of	Examples
name	antioxidants	
Antioxidant C	Carotenoids	β-carotene, Lycopene, Lutein
Antioxidant E	Enzymes	SOD, Catalase, GPx
Antioxidant G	Glutathione	Glutathione
Antioxidant H	Hormones	Melatonin, Oestrogen
Antioxidant L	Lipid associated chemicals	Ubiquinol-10, N-acetyl cysteine, lipoic acid
Antioxidant M	Minerals	Zinc, Selenium, Copper
Antioxidant P	Phenolics	Quercetin, Catechin
Antioxidant S	Saponines, Steroids	Cortisone, Estradiol, Estriol
Antioxidant V	Vitamins	α-tocopherol, Ascorbic acid

Initiation:	$RH \rightarrow R^{\bullet} + H^{\bullet}$		(1)
Propagation:	$R^{\bullet} + O_2 \rightarrow ROO^{\bullet}$		(2)
	$ROO \bullet + RH \rightarrow ROOH + R \bullet$		(3)
Termination:	$ROO \cdot + ROO \cdot \rightarrow ROOR + O_2$		(4)
	$ROO \cdot + R \cdot \rightarrow ROOR$	non- radical products	(5)
	$R^{\bullet} + R^{\bullet} \rightarrow R-R$		(6)

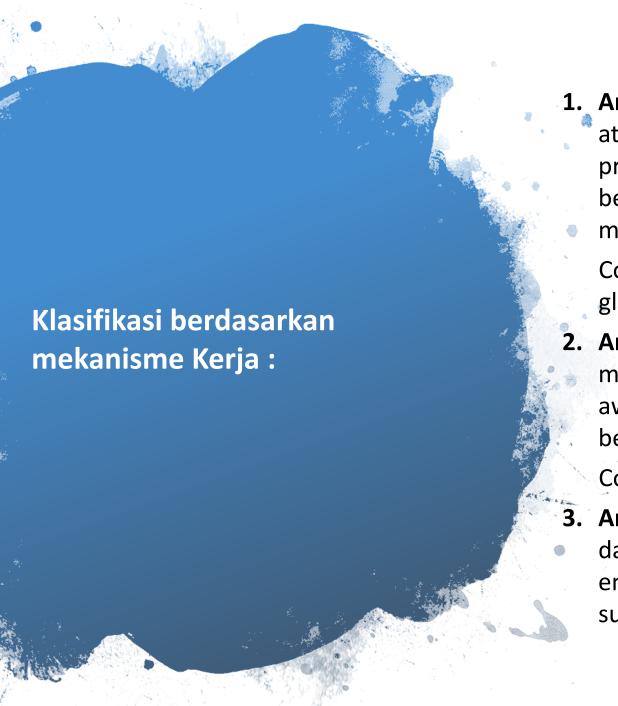
- Reaksi 1 : **Tahap inisiasi** Radikal alkil (R •) terbentuk dari asam lemak tak jenuh (RH)
- Reaksi 2 : Setelah terbentuk, Radikal alkil (R •) bereaksi dengan oksigen secara cepat dan terbentuk radikal peroksil (ROO •).
- Reaksi 3: merupakan tahap kedua propagasi, perpindahan radikal peroksil (ROO ●)
  menghasilkan hiperoksida (ROOH), dan radikal lain (R ●), yang akan menentukan laju
  reaksi. Tahap ini bukan hanya perpindahan sederhana, tetapi kadang terjadi beberapa
  proses tambahan pada tahap propagasi.
- Reaksi 4 s/d 6 : reaksi **berhenti**, apabila radikal bereaksi satu sama lain, membentuk produk yang lebih stabil yang tidak mampu menyebarkan reaksi berantai.

# Pengelompokkan Antioksidan, dapat berdasarkan :

- 1. Struktur
- 2. Kejadian dan cara tindakannya,
- 3. Kelarutan dan
- 4. Kinetika

#### Klasifikasi antioksidan berdasarkan Kinetik:

- 1. Antioksidan yang memutus rantai dengan mereaksikan radikal peroksil yang memiliki ikatan O-H atau N-H lemah. (Contoh: Fenol, Napthol, Hydro-quinone, amina aminofenol dan aromatic)
- 2. Antioksidan yang mematahkan rantai dengan bereaksi dengan radikal alkil (Contoh: kuinon, nitron, iminoquinon)
- 3. Antioksidan pemecah Hydroperoxide (Contoh: sulfida, fosfida, tiofosfat)
- 4. Antioksidan yang menonaktifkan metal (Contoh: diamina, asam hidroksil dan senyawa bifungsional)
- 5. Antioksidan Pemutus rantai siklik (Contoh: amina aromatik, radikal nitroksil, seny logam valensi variable)
- 6. Tindakan Sinergi beberapa antioksidan (Contoh: fenol sulfida dimana gugus fenolik bereaksi dengan gugus radikal; gugus sulfida bereaksi dengan hidro peroksida)



Antioksidan primer dapat bereaksi dengan radikal bebas atau mengubahnya menjadi produk yang stabil. Antioksidan primer berperan untuk mencegah pembentukan radikal bebas baru dengan memutus reaksi berantai dan mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil.

Contoh: enzim superoksida dimustase (SOD), katalase dan glutation dimustase.

2. Antioksidan Sekunder atau antioksidan preventif berfungsi menagkap senyawa radikal sehingga dapat mengurangi laju awal reaksi rantai serta mencegah terjadinya reaksi berantai.

Contoh: vitamin E, Vitamin C, dan  $\beta$ -karoten.

3. Antioksidan Tersier berfungsi memperbaiki kerusakan sel dan jaringan yang disebabkan oleh radikal bebas. Contoh: enzim yang memperbaiki DNA pada inti sel, yaitu metionin sulfoksida reduktase.

Paparan Oksidan ketubuh dapat terjadi:

1. Oksidan Endogen: hasil metabolisme normal.

Respirasi mitokondria menghasilkan superoksida & hidrogen peroksida, sedangkan enzim lipoxygenase, xantin oksidase, dan NADPH oxidase menghasilkan hidroperoksida & superoksida

2. Oksidan Eksogen timbul dari polusi lingkungan seperti asap, radiasi UV, dan diet.

Antioksidan tersedia secara sistemik untuk mengikat ROS (spesies oksigen reaktif) agar tidak terjadi kerusakan makromolekul seperti lipid, DNA, dan protein.

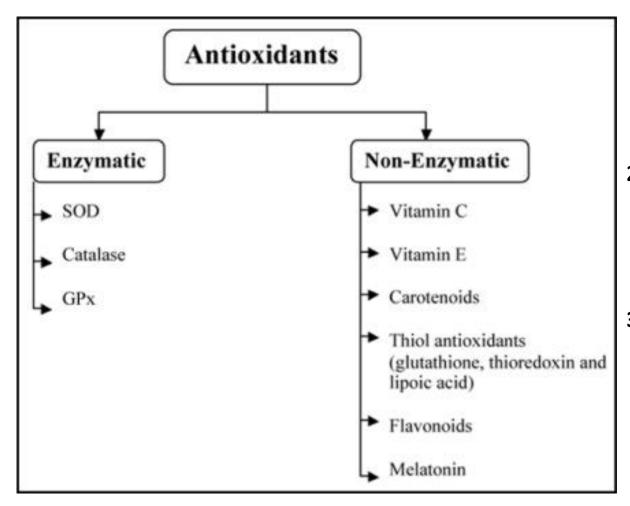
#### Antioksidan protektif diperoleh dari :

- Hasil metabolisme, contoh: glutathione (GSH) dan asam urat;
- Asupan makanan, contoh : vitamin E dan C;
- dan enzim yang menguraikan spesies oksigen reaktif seperti superoksida dismutase, katalase, dan GSH peroksidase

Biasanya ada keseimbangan antara oxidant yang dihasilkan dengan daya mengais antioxidant.

**Stres oksidatif** adalah keadaan dimana antioksidan dalam tubuh tidak cukup untuk memecah spesies oksigen reaktif sehingga diperlukan antioksidan dari luar (eksogen) untuk mengatasinya.

Antioksidan yang penting dalam tubuh : vitamin E, vitamin C, tiol, dan flavonoid



#### **ANTIOKSIDAN ENZIMATIK**

- **1. Superoksida dismutase** (SOD) enzim intraselular yang paling efektif, mengkatalisis penurunan  $O_2 \bullet^{--}$  menjadi  $O_2$  dengan tingkat reaksi yang sangat tinggi dengan oksidasi dan pengurangan berturut-turut ion logam transisi dan pada spesies yang kurang reaktif  $H_2O_2$ .
- 2. Katalase adalah enzim di dalam sel tanaman, hewan dan bakteri aerobic yang terletak di organel sel yang disebut peroksisom. Enzim ini mempromosikan konversi hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen molekuler
- pertahanan anti-oksidatif yang paling penting. Enzim GPx dengan adanya tripeptide glutathione (GSH) akan menambah dua elektron agar peroksida berkurang. GPx menguraikan peroksida menjadi air atau alcohol, dan secara simultan mengoksidasi GSH. Enzim ini mampu menghilangkan peroksida yang merupakan substrat dalam reaksi Fenton

## NON-ENZYMATIC ANTIOXIDANT

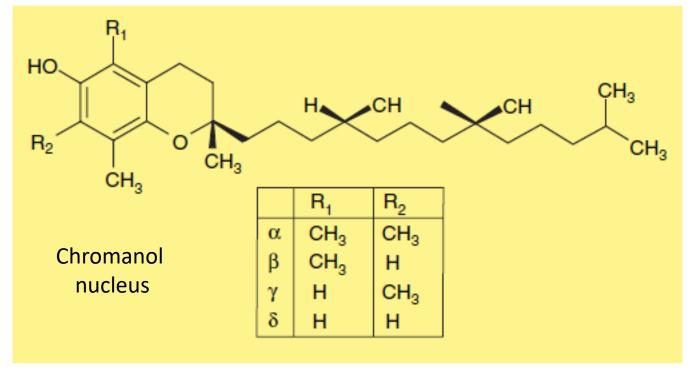
#### 1. VITAMIN E

 Vitamin E adalah antioksidan lipofilik yang utama pada kulit, dan merupakan antioksidan alami yang paling umum dalam formulasi topikal.

• Ditemukan hampir disetiap bagian kulit, dermis, epidermis dan bahkan pada stratum korneum, memiliki peran penting dalam melindungi biomolekul dari **oksidatif stress**.

• Terdiri dari **chromanol nucleus** serta gugus hidroksil fenolik redoks-aktif pada ekor dan

bersifat lipofilik.



Gambar 1. Bentuk alami Vitamin E

## Lanjutan Vitamin E

- Aktivitas biologi bentuk isoformnya berbeda.
   Misal: transfer protein-tokoferol dalam hati akan lebih memilih RRR-α-tokoferol dan memasukkan ke dalam VLDL, menyebabkan resirkulasi dari pool α-tokoferol.
   Karena protein tidak mengenal bentuk lain, maka akan diekskresikan lebih cepat.
- Pada kulit  $\alpha$ -tokoferol merupakan bentuk dominan dari vitamin E dengan konsentrasi 5 10 lebih tinggi dari  $\Upsilon$ -tokoferol.
- Mekanisme vitamin E untuk mencapai stratum corneum terjadi dalam 2 cara yang berbeda :
  - i. Vitamin E yang disimpan dalam keratinosit akan bergerak naik ke Stratum Corneum yang baru terbentuk, sehingga kadar gradien-jenis α-tokoferol menuju permukaan kulit menurun.
  - ii. Mekanisme lainnya, vitamin E disekresikan oleh kelenjar sebaceous dan mencapai *Stratum Corneum* dari luar. Pada area yang kaya akan kelenjar-sebaceous (seperti wajah), mekanisme ini yang bertanggung jawab atas tersedianya vitamin E pada *Stratum Corneum* bagian luar.

## Lanjutan Vitamin E

- Awalnya aktivitas kelenjar sebaceous pada anak-anak rendah, dan pada masa pubertas akan meningkat dan mencapai puncaknya pada usia 19 tahun, setelah itu akan konstan.
- Berdasarkan Kohort studi, aktivitas Kelenjar sebaceous mulai menurun pada usia 50 sampai 59 tahun (wanita) dan pada pria mulai dari 70 tahun.
- Pemberian vitamin E **secara topical** diperlukan bagi anak-anak; wanita yang lebih tua dari 50 tahun; dan laki-laki yang lebih tua dari 70 tahun. Pemberian vitamin E secara oral, akan mencapai kulit melalui kelenjar sebaceous setelah **2-3 minggu pemberian**.
- Pada oksidatif stress vitamin E akan lebih banyak terkuras dibanding antioksidan lainnya
  - Hasil simulasi dengan radiasi UV pada epidermis menunjukkan bahwa 4 minimal erythemal dosis (MED) untuk menguras vitamin E, kenyataannya 0,75 MED sudah menghancurkan vitamin E dalam Stratum Corneum
  - Percobaan pada Tikus menunjukkan bahwa dosis 1 ppm x 2 jam ozon  $(O_3)$  akan menghabiskan vitamin E di Stratum Corneum, karena tingginya konsentrasi  $O_3$  dibandingkan keadaan alami troposfer  $O_3$ , tetapi untuk kulit manusia belum diketahui dengan pasti.
  - **Penggunaan obat jerawat**: aplikasi tunggal dari formulasi 10% w/v benzoil peroksida, secara in vivo akan menghabiskan hampir semua vitamin E di Stratum Corneum

## Lanjutan Vitamin E .....

- α-Tokoferol banyak digunakan sebagai bahan aktif dalam formulasi topical karena dapat menembus kulit dengan mudah.
- Bentuk bebas vitamin E **tidak stabil dan peka** terhadap cahaya (menyerap di kisaran UVB), sehingga biasanya gugus hidroksil aktif dilindungi oleh **esterifikasi dengan asetat**.
- Ester vitamin E lebih stabil, tetapi tidak aktif terhadap redoks. Pemberian vitamin E asetat secara oral, dalam usus akan terhidrolisis secara kuantitatif.
- Penelitian pada tikus dan mencit menunjukkan aplikasi kronis a-tokoferol asetat menyebabkan peningkatan vitamin E bebas, dan baru-baru ini diketahui bahwa UVB meningkatkan hidrolisis a-tokoferol asetat dengan induksi esterase non-spesifik hingga 10 sampai 30 kali lipat.
- Sedangkan penelitian lain menunjukkan bahwa **biokonversi a-tokoferol asetat** tidak terjadi pada kulit manusia, yang menunjukan hidrolisis secara signifikan dalam studi terbaru menggunakan Model kultur jaringan epidermis manusia dan in vivo. Formulasi 0,15% vitamin E asetat meningkatkan vit E pada *Stratum Corneum* jauh lebih banyak daripada suplementasi oral 400-IU a-tokoferol. Juga pemberian Vitamin E dalam sediaan bilas mampu meningkatkan vitamin E.
- Untuk melihat manfaat pada kesehatan perlu dilihat ketersediaan bentuk bebas vitamin E. Banyak penelitian yang dilakukan pada binatang, dan data penelitian pada manusia masih terbatas

## Keamanan suplementasi vitamin E

- Selama bertahun-tahun, aplikasi vitamin E secara oral telah dianggap tidak berbahaya. Sebuah meta-analisis membahas adanya peningkatan mortalitas keseluruhan setelah suplementasi vitamin E secara oral. Namun, metaanalisis lainnya tidak menemukan peningkatan mortalitas kanker dengan vitamin E.
- Sebuah panel ahli menyimpulkan dari bukti uji klinis bahwa suplemen vitamin E aman untuk orang dewasa umumnya dalam jumlah ≤ 1600 IU (1073 mg RRR-a-tokoferol atau setara molar ester-nya. [ASEAN Vitamin E adalah 536 mg/day atau 800 IU/day]
- Data Keamanan diperoleh dari suplementasi **oral**, tidak ada studi terkontrol yang besar untuk penggunaan vitamin E secara topikal.

## Toco-trienol vitamin E menjadi fokus perhatian,

 karena diketahui sebagai antioksidan yang lebih efisien pada beberapa model daripada Tokoferol. Tocotrienol bebas mudah menembus ke dalam kulit tikus, dan tocotrienol asetat dihidrolisis dalam homogenat kulit dan in vivo pada kulit murine.

Gb. 2 Struktur vitamin C sebagai mono-anion ascorbate.

## 2. Vitamin C

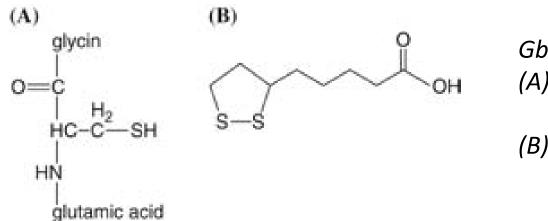
- Asam askorbat atau vitamin C adalah salah satu antioksidan yang larut dalam air yang paling penting, dan dalam kulit terdapat dalam jumlah yang tinggi.
- Sebagian besar spesies mampu menghasilkan asam askorbat, tetapi manusia tidak memiliki enzim yang untuk mensintesa vitamin C.
- Kekurangan asam askorbat menyebabkan penyakit kulit scurvy, penyakit yang sudah ditemukan sejak jaman Yunani kuno.
- Terlepas dari fungsi antioksidan murni, asam askorbat merupakan co-faktor penting bagi berbagai enzim. Kapasitas antioksidan vitamin C terkait dengan struktur uniknya (Gambar. 2). Dengan pKa1 4,25 maka pada pH fisiologis tersedia sebagai monoanion, yang dapat memberikan sumbangan satu-elektron untuk membentuk radikal ascorbyl dengan elektron terdelokalisasi dan dapat teroksidasi lebih lanjut menghasilkan asam dehidroaskorbat.

## Lanjutan Vitamin C

- Asam dehidro askorbat relatif tidak stabil dan akan rusak jika tidak diregenerasi. Asam askorbat secara in vivo, dapat mengais (scavenge) berbagai jenis radikal, termasuk hidroksil (OH\*), superoksida (O2\*), dan radikal peroxyl larut dalam air (ROO\*) serta spesies oksigen reaktif (ROS) lainnya seperti O<sub>3</sub>, & singlet O<sub>2</sub>.
- Askorbat dapat mereduksi Fe (III) menjadi Fe (II), yang kemudian dapat menguraikan hidrogen peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) menjadi radikal hidroksil berbahaya. Vitamin C dapat memberi efek pro-oksidan (Fenton's reagent) dengan adanya Besi tidak terikat/bebas,
- Di kulit, vitamin C ditemukan di semua lapisan. Di Stratum Corneum, seperti vitamin E dapat membentuk gradien dengan konsetrasinya menurun ke arah luar. Vitamin C akan habis dengan adanya O<sub>3</sub>, radiasi UV, & BPO.
- Manfaat vitamin C pada kulit, dapat merangsang sintesis kolagen dalam fibroblas dermal. Penelitian pada rekonstruksi epidermis menunjukkan bahwa Vitamin C sangat penting dalam pembentukan barrier lipid yang kompeten, beberapa studi menunjukkan efek protektif vitamin C terhadap stres oksidatif.
- Banyak penelitian pada hewan yang menunjukkan bahwa vit C dapat mengatasi kerusakan kulit akibat radiasi UVB. Kombinasi vit C (15%) dan Vit E (1%) menunjukan perlindungan terhadap eritema, pembentukan sel kulit terbakar, dan pembentukan dimer timidin pada babi.
- Vitamin C sangat tidak stabil, sehingga sediaan topical menggunakan ester vit C dengan fosfat. In vitro menunjukkan bahwa Mg-ascorbyl-2-fosfat menembus penghalang kulit murine dan dapat terkonversi menjadi free askorbat.

#### 3. ANTIOXIDANT THIOL

Tiol berbagi gugus sulfhidril (SH) yang dapat teroksidasi. Glutathione (GSH) adalah tripeptide dengan gugus SH pada sistein dapat teroksidasi, dan membentuk disulfida (GSSG) dengan GSH lain. Secara fisiologis, lebih dari 90% GSH dalam bentuk tereduksi. GSH peroksidase akan menggunakan oksidasi GSH untuk mereduksi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan peroksida lainnya yang larut air. Sintesis GSH oleh sel manusia dirangsang oleh N-asetil-sistein (NAC), yang dihidrolisis menjadi sistein intraseluler. Selain itu, NAC bertindak sebagai antioksidan itu sendiri.



- Gb. 3 Struktur Thiol:
- (A) GSH terdiri dari Glycine, Cysteine, dan Asam Glutamat.
- (B) Asam Lipoat dalam bentuk teroksidasi sebagai disulfida
- Asam lipoat (1,2-dithiolane-3-pentanoic acid or thioctic acid, LA) adalah kofaktor dari kompleks multienzim dalam dekarboksilasi asam a-keto. Pemberian DHLA (Ditiol asam dihydrolipoic) teroksidasi, akan diambil oleh sel-sel dan tereduksi oleh mitokondria dan enzim sitosolat [NAD (P)Hdependent] dan membentuk siklus yang efisien dapat meregenerasi GSSG menjadi GSH dan menstimulasi sintesa GSH dengan meningkatkan penggunaan sistein

- Hal ini membentuk sebuah siklus yang efisien, karena dapat meregenerasi GSSG menjadi GSH dan merangsang sintesis GSH dengan meningkatkan pemanfaatan sistein
- Penggunaan tiol secara topical akan memberikan bau khas dan kelarutan yang jelek dari LA dalam larutan air pada pH dibawah 7. Namun, beberapa senyawa tiol telah diuji untuk efek pelindung pada kulit. Untuk aplikasi secara oral serta topikal pada model tikus, ester GSH-etil dan ester GSH-isopropil terbukti lebih efisien daripada GSH bebas.
- Suplementasi oral menurunkan pembentukan tumor akibat radiasi UV dan pembentukan sel-sel kulit terbakar. Pemberian secara topical akan menghambat sebagian imunosupresi akibat induksi UV.
- NAC mampu mengurangi kerusakan DNA akibat induksi UVA dalam fibroblas dan melindungi tikus terhadap imunosupresi akibat UVB terinduksi, setelah aplikasi topikal dalam mode yang tidak melibatkan sintesa GSH. Asam Lipoat dapat menembus ke dalam kulit tikus, sedangkan suplementasi oral asam lipoic sebenarnya telah terbukti memiliki efek antiinflamasi pada tikus dan mencegah gejala kekurangan vitamin E vitamin pada tikus yang kekurangan vit E

### 4. POLYPHENOLS

- Komponen kimia yang berperan sebagai antioksidan adalah senyawa golongan fenolik dan polifenolik
- Flavonoid didistribusikan secara luas pada pigmen tumbuhan dan tanin yang terjadi di kulit batang, akar, daun, bunga, dan buah-buahan yang berfungsi untuk fotoproteksi dan memberikan warna tanaman. Makanan yang kita makan (terutama sayuran berwarna hijau hingga merah anggur) mengandung flavonoid
- Tahun 1936 Rusznyak dan Szent-Gyorgyi menemukan aktivitas biologisnya untuk pertama kali dan menyebutnya sebagai pasangan aksi vitamin C dan dikenal sebagai "Vitamin P", dan disebut juga sebagai "polifenol tanaman"

• Struktur polifenol seperti dalam Gb. 4, mampu mengikat radikal bebas dan mengkelat logam melalui kemampuannya untuk menyumbangkan elektron dan hidrogen yang merupakan fitur utamanya sebagai antioksidan

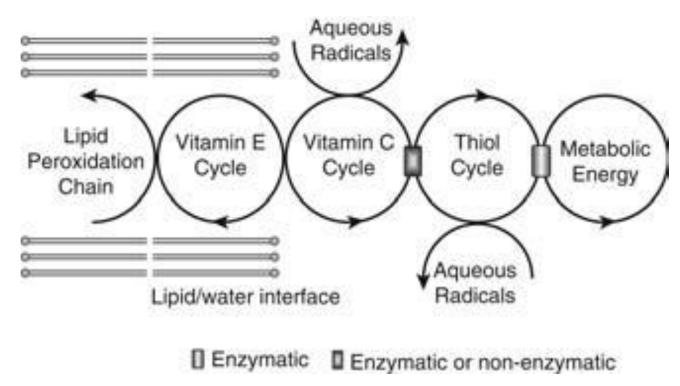
Flavonoid antioxidants.

## Lanjutan POLYPHENOLS

- Meskipun Flavonoid **bukan bagian** dari sistem antioksidan endogen tapi mempunyai spektrum yang luas, dan dapat berinteraksi dengan antioksidan melalui **antioksidan network**.
- Secara tradisional, flavonoid menunjukkan efek antiinflamasi, antiphlogistic, dan penyembuhan luka. Kerja pada peradangan kulit sebelumnya diketahui melalui hambatan aktivitas 5-lipoxygenase dan siklooksigenase, tetapi studi terbaru menunjukkan mekanisme flavonoid (seperti silymarin, quercetin, genistein, dan apigenin) sebagai **inhibitor efektif NF-kB**, faktor transkripsi proinflamasi, sehingga mengurangi transkripsi gen proinflamasi dan mencegah peradangan.
- Percobaan pada tikus, dengan memberikan Polifenol yang terdapat dalam Teh Hijau dan Hitam secara oral atau topical menunjukkan dapat melawan karsinogenesis kulit akibat radiasi UV. Flavonoid serta silymarin yang dapat mencegah peradangan akibat induksi UVR, ekspresi dekarboksilase ornithine, yang semua aktivitas tsb dapat berpotensi menjadi karsinogenesis.
- Procyanidins dikenal sebagai "tannin terkondensasi" adalah flavonoid yang ditemukan dalam kulit kayu pinus (Pycnogenol1), dan biji anggur. Interaksinya langsung dengan protein dapat melindungi matriks protein dermal kolagen dan elastin terhadap degradasi.
- Beberapa procyanidins menunjukkan efek yang luar biasa terhadap proliferasi folikel rambut, sehingga flavonoid dapat digunakan untuk terapi alopecia.

#### ANTIOXIDANT NETWORK

- Ketika antioksidan bereaksi dengan oksidan, mereka akan dikonversi ke bentuk yang tidak memiliki daya antioksidan, sehingga antioksdian tsb perlu didaur ulang ke bentuk aslinya.
- Antioksidan network menggambarkan kemampuan antioksidan untuk mendaur ulang dan meregenerasi bentuk teroksidasi satu sama lain, sehingga memberikan tingkat perlindungan ekstra (Gbr 5 dibawah)



Gb. 5 Skema antioksidan network. Molekul askorbat dapat mendaur ulang radikal vitamin E yang timbul dari pemecahan rantai peroksidasi lipid atau mengais radikal air. Glutathione dapat meregenerasi askorbat atau mengais radikal secara enzimatik. Kemudian, Glutathione sendiri bisa diregenerasi oleh metabolisme sel

## Lanjutan Antioxidant network .....

#### Mekanisme "Network"

- Antioksidan sistemik yang utama vitamin E, vitamin C, dan GSH berada dalam kompartemen sel yang berbeda, tetapi semuanya memiliki kemampuan untuk berinteraksi satu sama lain.
- Efek SINERGIS selalu memberikan jumlah perlindungan antioksidan lebih besar daripada jumlah efek individual
- Vitamin E yang merupakan antioksidan pemecah rantai utama bertugas melindungi membran biologis dari peroksidasi lipid. Vitamin E tidak pernah habis karena terusmenerus didaur ulang.
- Saat vitamin E teroksidasi akan terbentuk radikal vitamin E (radikal chromanoxyl). Apabila tidak ada antioksidan network, maka radikal tsb berubah menjadi pro-oksidan dengan memindahkan hidrogen dari lipid atau bereaksi membentuk produk non-radical (terkonsumsi).
- Beberapa antioksidan seperti vitamin C, ubiquinol, dan GSH diketahui mampu mengurangi radikal chromanoxyl dan meregenerasi vitamin E.

## Lanjutan Antioxidant network .....

- Vitamin C merupakan antioksidan dengan jumlah berlimpah dalam plasma, dan merupakan pertahanan pertama, dapat mengurangi radikal tocopheroxyl, membentuk ascorbyl radikal.
- Interaksi antara vitamin E dan C telah dibuktikan baik secara in vivo dan in vitro. Radikal Ascorbyl praktis inert dan mengoksidasi lebih lanjut untuk membentuk asam dehidroaskorbat. Adanya GSH dapat mereduksi vitamin C kebentuk asal/asli.
- Proses ini terjadi secara kimiawi dan enzimatis di eritrosit dan neutrofil yang diinduksi oleh bakteri.
- Glutathione adalah antioksidan utama di intraseluler. GSSG teroksidasi akan terus didaur ulang menjadi GSH secara enzimatis oleh GSH reduktase, sehingga menjaga GSH *pool* konstan.
- Daur ulang Glutathione mengandalkan NAD(P)H sebagai donor electron, sehingga jalur metabolisme dalam produksi energi akan merupakan sumber donor elektron utama untuk antioksidan network.
- GSH dapat langsung mendaur ulang vitamin E serta ubiquinol, antioksidan lipofilik lain yang mendaur ulang sendiri dalam mitokondria sebagai bagian dari rantai transpor elektron.
- Flavonoid diketahui dapat berperan pula sebagai network karena kemampuannya untuk mendaur radikal ascorbyl.

**Table 2.** Different techniques used to measure antioxidant activity.

Techniques	Antioxidant Capacity Assay		Principle of the Method	<b>End-Product Determination</b>	
y.	ORAC		Antioxidant reaction with peroxyl radicals, induced by 2,2'-azobis-2-amidino-propane (AAPH)	Loss of fluorescence of fluorescei	
Spectrometry		HORAC	Antioxidant capacity to quench OH radicals generated by a Co(II) based Loss of fluorescence of Fenton-like system		
Sp		TRAP	Antioxidant capacity to scavenge luminol-derived radicals, generated from AAPH decomposition	Chemiluminescence quenching  Colorimetry  Colorimetry	
		CUPRAC	Cu (II) reduction to Cu (I) by antioxidants		
		FRAP	Antioxidant reaction with a Fe(III) complex		
		PFRAP	Potassium ferricyanide reduction by antioxidants and subsequent reaction of potassium ferrocyanide with Fe <sup>3+</sup>	Colorimetry	
		ABTS	Antioxidant reaction with an organic cation radical	Colorimetry	
_		DPPH	Antioxidant reaction with an organic radical	Colorimetry	
FluorimetricAnalysis		Emission of light by a compound, which has absorbed light or other electromagnetic radiation of a different wavelength	Recording of fluorescence excitation/emission spectra		

ORAC—Oxygen Radical Absorption Capacity; HORAC—Hydroxyl Radical Antioxidant Capacity; TRAP—Total Peroxyl Radical Trapping Antioxidant Parameter; CUPRAC—Cupric Reducing Antioxidant Power; FRAP—Ferric Reducing Antioxidant Power; PFRAP—potassium ferricyanide reducing power; ABTS—2,2'-Azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid; DPPH—[2,2-di(4-tert-octylphenyl)-1-picrylhydrazyl].

 Table 2. Cont.

Techniques	Antioxidant Capacity Assay	Principle of the Method	End-Product Determination	
Techniques	Voltammetry	The reduction or oxidation of a compound at the surface of a working electrode, at the appropriate applied potential, resulting in the mass transport of new material to the electrode surface and in the generation of a current	Measurement of the current of the cathodic/anodic peak	
Electrochemical Techniques	The potential of the working electrode  Amperometry  Amperometry  The potential of the working electrode  is set at a fixed value with respect to a reference electrode  Measurement current generation of		Measurement of the current generated by the oxidation/ reduction of an electroactive analyte	
Elec	Biamperometry	The reaction of the analyte (antioxidant) with the oxidised form of a reversible indicating redox couple	Measurement of the current flowing between two identical working electrodes, at a small potential difference and immersed in a solution containing the analysed sample and a reversible redox couple	
graphy	Gas chromatog- raphy	Separation of the compounds in a mixture is based on the repartition between a liquid stationary phase and a gas mobile phase	Flame ionisation or thermal conductivity detection	
High a mi performance betw liquid chro- and matography diffe	Separation of the compounds in a mixture is based on the repartition between a solid stationary phase and a liquid mobile phase with different polarities, at high flow rate and pressure of the mobile phase	UV-Vis (e.g., diode array) detection, fluorimetric detection, mass spectrometry or electrochemical detection		

 $\lambda = 517 \text{ nm}$ 

## Keuntungan metode DPPH:

- Murah
- Mudah
- Reprodusibel
- Dapat dilakukan apda suhu ruang

### UJI AKTIFITAS ANTIOKSIDAN MENGGUNAKAN METODE DPPH

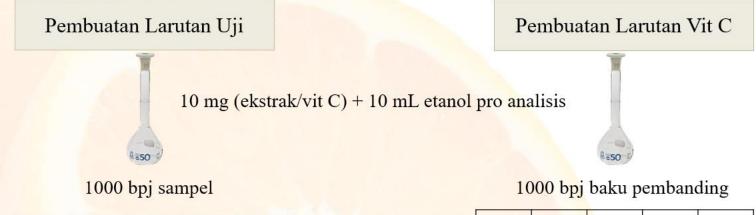
20

μg

40

μg





Dimasukkan ke dalam labu tentukur 5,0 mL, ditambahkan etanol pro analisis hingga batas tanda

25	50	75	100	125
bpj	bpj	bpj	bpj	bpj

80

μg

160

μg

200

μg

4	6	8	10	12
bpj	bpj	bpj	bpj	bpj

30

μL

35

 $\mu L$ 

40

μL

25

μL

20

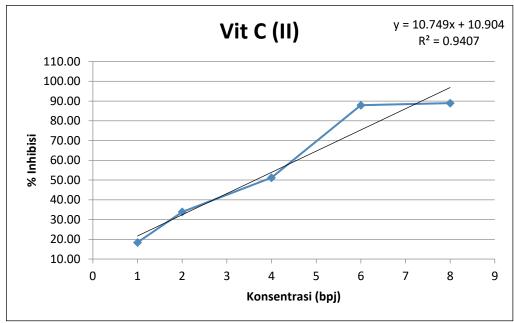
μL

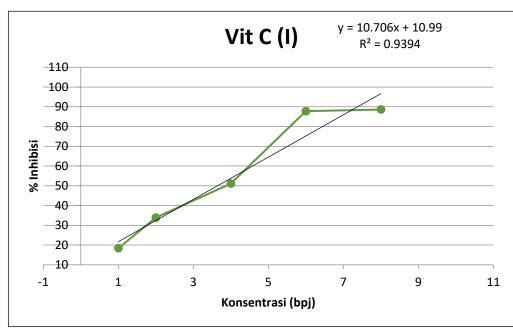
Masing-masing larutan ditambahkan dengan larutan DPPH sebanyak 1 mL. Serapan diukur pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis

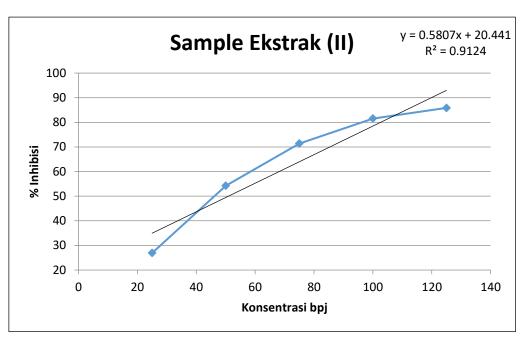
% Inhibisi = 
$$\frac{Serapan \ blanko - Serapan \ sampel}{Serapan \ blanko} \times 100\%$$

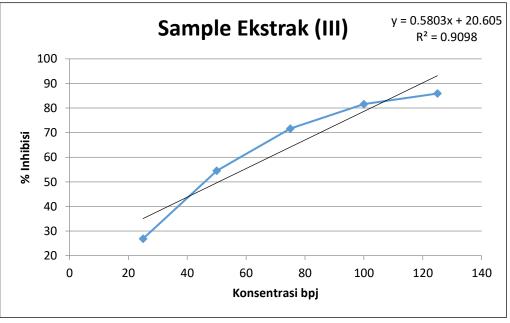
Nilai  $IC_{50}$  dihitung menggunakan regresi linier dengan persamaan y = a + bx dimana  $IC_{50}$  dinyatakan oleh x

#### **HASIL PENGUKURAN**









## ex vivo (Radical Skin Protection Factor: RSF)

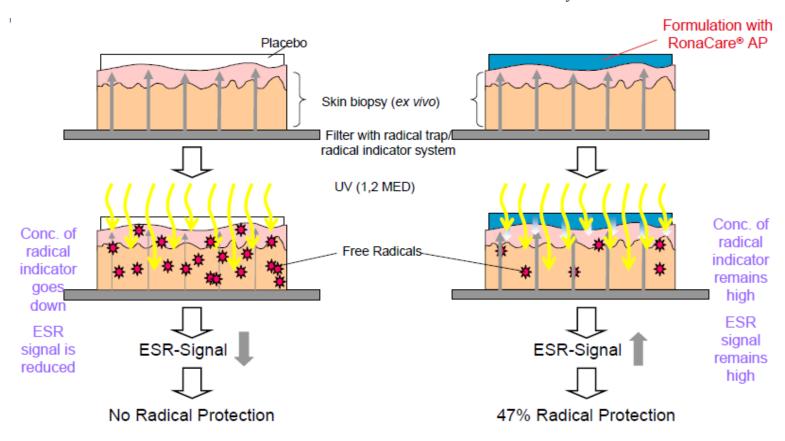
#### **Latar Belakang:**

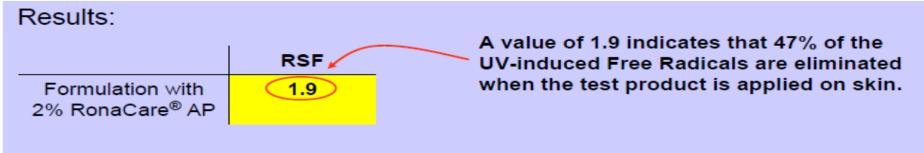
- Radikal bebas yang terbentuk pada kulit karena Iradiasi UV
- Hanya bahan aktif yang memiliki aktivitas antioxidatif dan ada di kulit yang dapat mengurangi jumlah total radikal bebas (FR).

#### Cara uji:

- Jumlah radikal bebas (FR) yang diinduksi oleh UV ditentukan menggunakan biopsi kulit
- Kulit tsb diberi label sistem indikator radikal.
- FR akan bereaksi dengan *probe* ini
- Hanya radikal bebas (FR) yang dibentuk didalam kulit yang mampu mengoksidasi indikator radikal tsb.
- Jumlah radikal bebas, i.e. Kadar sisa indikator yang dideteksi melalui Spectroskopi Electron Spin Resonance Spectroscopy (ESR)
- Radical Skin Protection Factor (RSF) merupakan kapasitas antioxidatif dari bahan

# RSF (Radical Skin/Sun Protection Factor) $RSF = \frac{N_{free radicals} unprotected}{N_{free radicals} protected}$







Mary Kay TimeWise
Replenishing Serum
C+E

\$60 AT MARY KAY

Read more



BEST VALUE ANTIOXIDANT SERUM

RoC Multi Correxion Revive + Glow Vitamin C Serum

\$23 AT AMAZON

Read more



SkinCeuticals C E

\$169 AT DERMSTORE

Read more



30ml Exp2022









PCA Skin Rejuvenating Serum with Antioxidants & Plant Stem Cell - 30ml Exp2022

2 orang melihat barang ini

Rp2.095.000

## ELEMIS OFFICIAL STORE √ Menggandakan kadar air pada kulit, memberikan kelembapan sempurna dengan formula yang cepat menyerap ✓ Memberikan hidrasi instan dan intens hingga 24 jam √ Mengurangi tampilan garis-garis halus dan kerutan

#### Serum

Essence



## Y.O.U | OFFICIAL



**SERUMS** have a gel-like consistency. They're highly concentrated with powerful ingredients to help the skin get rid of wrinkles, fine lines, discoloration, and hyperpigmentation.

Serums are used to rejuvenate the skin at a cellular level and can work on a wide range of skin health factors simultaneously. They provide <u>vitamins</u>, <u>antioxidants</u>, peptides, and enzymes, among other beneficial nutrients, which fight off free radical damage, skin pigmentation, aging signs, acne, and <u>scarring</u>.

**ESSENCES** are designed to **hydrate and nourish the skin**, while serums are typically used to target specific concerns such as **fine lines**, **blemishes**, **or dullness**. Essence is a watery substance, lightly concentrated with active ingredients that provide hydration. It brings out your inner glow and helps to <u>even out your skin</u>, both in tone and texture, eliminating dark spots. Essence soothes skin at the cellular level, accelerating natural turnover and encouraging a smoother, healthier complexion.

**THE DIFFERENCE**; serums are **heavier and thicker** than essences. Despite this, they're still relatively lightweight and absorb well. They deliver beneficial nutrients and hydration to the deepest layers of the skin, where moisturizers can't penetrate. Depending on the brand, some serums can be greasy. The thicker and greaser the serum, the higher the concentration of active ingredients. **Serums are thicker and should be applied after** you've used essence.

#### **Essence VS Serum: Which is Better?**

Essence will be better for some people, while serum will be best for others. It really depends on your skin type and specific skin problem. If you have **sensitive or dry skin**, try essence first and see how it goes. But if you have **oily and acne-prone skin**, go for a more concentrated serum with potent ingredients.